

Diagnóstico de Tumor Venéreo Transmissível (TVT) em cães (*canis lupus familiaris*) por meio do método de “imprint”

Diagnosis of Transmissible Venereal Tumor (TVT) in dogs (*canis lupus familiaris*) using the "imprint" method

Diagnóstico del Tumor Venéreo Transmisible (TVT) en perros (*canis lupus familiaris*) mediante el método "imprint"

Recebido: 14/10/2021 | Revisado: 22/10/2021 | Aceito: 25/02/2022 | Publicado: 06/03/2022

Lidiely Pereira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6438-6166>
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
E-mail: lidiely@gmail.com

João Gustavo da Silva Garcia de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5899-2490>
Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil
E-mail: joaogarciadesouza27@gmail.com

Thiago Vaz Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3192-1908>
Universidade Federal do Acre, Brasil
E-mail: Thiagovlopes@hotmail.com

Igor Mansur Muniz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0863-6647>
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
E-mail: igor.mansur@unir.br

Sandro de Vargas Schons

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9811-5356>
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
E-mail: sandroschons@unir.br

Fernando Andrade Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9474-9404>
Universidade Federal do Paraná, Brasil
E-mail: femedvet@yahoo.com.br

Resumo

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é uma neoplasia comum entre os cães, que raramente desenvolve metástases, está classificado no grupo dos tumores de células redondas. Esse tumor é mais observado em animais jovens de raças variadas, porém apresenta uma incidência maior em animais errantes que estão na fase sexualmente ativa, não havendo distinção entre os sexos, sendo observado tanto em machos como em fêmeas. A morfologia celular do TVT é muito característica, se diferenciando dos outros tumores classificados como de células redondas, isso faz com que haja uma facilidade em realizar o seu diagnóstico. O diagnóstico clínico desse tumor, por meio de exame físico é muito comum, já que em muitos casos o tumor é observado na genitália externa dos animais acometidos, sendo facilitada a coleta de material para exame citológico. Caso o animal não apresente na genitália externa, será necessária a coleta de material para histopatologia. O objetivo deste estudo foi verificar a eficiência da metodologia do “imprint” para realização do diagnóstico desse tumor venéreo. Essa metodologia é considerada de baixo custo, de fácil execução e rapidez, o que leva a um diagnóstico preciso. Os resultados encontrados são indicativos que a metodologia de “imprint” se mostrou eficaz para o diagnóstico dessa neoplasia, até porque o uso da citologia em caso de células redondas em muitos casos é mais preciso que o diagnóstico efetuado por técnicas histopatológicas.

Palavras-chave: Cães; Neoplasia; Tumor venéreo transmissível; Citologia.

Abstract

The Transmissible Venereal Tumor (TVT) is a common neoplasm among dogs, which rarely develops metastases, it is classified in the group of round cell tumors. This tumor is more commonly observed in young animals of different breeds, but it has a higher incidence in stray animals that are in the sexually active phase, with no distinction between the sexes, being observed in both males and females. The cellular morphology of TVT is very characteristic, different from other tumors classified as round cells, which makes the diagnosis easier. The clinical diagnosis of this tumor, by means of physical examination, is very common, since in many cases the tumor is observed in the external genitalia of the affected animals, being facilitated the collection of material for cytological examination. If the animal does not

present in the external genitalia, it will be necessary to collect material for histopathology. The objective of this study was to verify the efficiency of the "imprint" methodology to perform the diagnosis of this venereal tumor. This methodology is considered low cost, easy to perform and fast, which leads to an accurate diagnosis. The results found are indicative that the "imprint" methodology proved to be effective for the diagnosis of this neoplasm, even because the use of cytology in the case of round cells in many cases is more accurate than the diagnosis made by histopathological techniques.

Keywords: Dogs; Neoplasm; Transmissible venereal tumor; Cytology.

Resumen

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) es una neoplasia común entre los perros, que rara vez desarrolla metástasis, se clasifica en el grupo de tumores de células redondas. Este tumor se observa con mayor frecuencia en animales jóvenes de diferentes razas, pero tiene una mayor incidencia en animales callejeros que se encuentran en fase de actividad sexual, sin distinción de sexos, observándose tanto en machos como en hembras. La morfología celular del TVT es muy característica, diferente a otros tumores clasificados como de células redondas, lo que facilita el diagnóstico. El diagnóstico clínico de este tumor, mediante examen físico, es muy común, ya que en muchos casos el tumor se observa en los genitales externos de los animales afectados, facilitándose la recolección de material para examen citológico. Si el animal no presenta en los genitales externos, será necesario recolectar material para histopatología. El objetivo de este estudio fue verificar la eficacia de la metodología "imprint" para realizar el diagnóstico de este tumor venéreo. Esta metodología se considera de bajo costo, fácil de realizar y rápida, lo que conduce a un diagnóstico certero. Los resultados encontrados son indicativos de que la metodología "imprint" demostró ser eficaz para el diagnóstico de esta neoplasia, debido a que el uso de la citología en el caso de células redondas en muchos casos es más certero que el diagnóstico realizado por técnicas histopatológicas.

Palabras clave: Perros; Neoplasma; Tumor venéreo transmisible; Citología.

1. Introdução

Em 1820 se deu os primeiros relatos sobre o tumor venéreo transmissível. Sendo caracterizado em 1876 por NOVINSKY, onde transplantou células tumorais de um cão portador, para a mucosa genital de um cão saudável por meio do contato direto. (Santos, 2011; Lima, 2013). Porém foi no ano de 1904 que Sticker após vários estudos, e posteriormente caracterizado o TVT como um linfossarcoma, descreveu que era transmissível por meio de células transplantáveis que se localizavam em regiões genitais. Foram realizados estudos com cães, por meio de coleta de material celular proveniente das células da região tumoral, possibilitando verificar que se tratava de um tipo de tumor venéreo transmissível (Vilaça, 2016).

Alguns estudos demonstraram que o tumor venéreo transmissível tenha se originado por algumas alterações clonais ocorridas em um único lobo (*Canis lupus*) que posteriormente foi transmitida a cães (Rebeck et al. 2009). O TVT tem ocorrência natural afetando principalmente a mucosa genital de cães machos e fêmeas. Alguns autores acreditam que as transformações nas células podem ter ocorrido pela ação de vírus, radiações e substâncias químicas, sendo e disseminado por transplantação alogênica pelos cães, porém sua histogênese é controversa (Santos et al. 2005).

Esta neoplasia é encontrada no grupo de "Tumores de Células Redondas", dos mastocitomas, dos carcinomas de células basais, dos linfomas e dos histiocitomas (Silva, 2007). Além de apresentarem característica de células redondas ou ovais, o seu diâmetro apresenta-se entre 14 e 30 μm (Amaral et al. 2004). As células neoplásicas do TVT são células separadas por um discreto estroma fibrovascular, com núcleo grande, único, redondo a oval, hiper cromático, centralizado, com cromatina granular e nucléolo evidente, com citoplasma moderado, discretamente eosinofílico, vacúolos claros na periferia (Silva et al., 2015). Porém a sua linhagem celular pode apresentar diferenças em relação a expressão morfológica, dentre essas diferenças pode se observar ausência de vacúolos citoplasmáticos, presença de células maiores e ovóides, e presença de citoplasma abundante em TVT maligno (Dabus et al. 2008).

Alguns casos dessa neoplasia apresentam regressão espontânea, por isso vários estudos e pesquisas vem analisando a morte celular por apoptose das células do tumor, e também estudos sobre a ocorrência da interação entre o crescimento tumoral e a imunidade do hospedeiro. Devido ao modo de transmissão se assemelhar entre o TVT canino e o sarcoma de Kaposi (SK) humano, o estudo experimental do TVT vem sendo aprimorado a fim de elucidar dúvidas sobre o sarcoma humano

(Stockmann et al. 2011). O TVT é o primeiro tumor transmissível experimentalmente descrito. Através dessa descoberta vários pesquisadores do mundo todo voltaram sua atenção para essa neoplasia, e com isso ocorreu um novo ponto de partida para o estudo da oncologia, desvendando-se então a histiogênese dessa neoplasia, identificando algumas particularidades que estão relacionadas aos diversos tipos de padrões morfológicos que venham a justificar a predisposição à malignidade, ocorrência de resistência à terapia e um prognóstico desfavorável (Lima, 2013).

Foi verificado por meio de antígenos de histocompatibilidade que o tumor venéreo é composto por um transplante celular e não sendo formado por células do hospedeiro modificadas. A massa tumoral apresenta células redondas, podendo ser ovais ou poliédricas, sendo compacta, agrupadas ou dispostas em cordões e entremeadas por um estroma vascular bem delicado. As células que compõe o tumor apresentam núcleo grande, redondo e hipercromático, além de nucléolo proeminente, possuem uma quantidade moderada de citoplasma que se apresenta levemente eosinofílico e figuras de mitose, ocorrem também a presença de células inflamatórias, tais como neutrófilos, plasmócitos, linfócitos e macrófagos (Simermann, 2009).

O TVT está presente em várias partes do mundo, acometendo cães, apresentando maior ocorrência em países de clima quente e úmido ou em locais onde há grande quantidade de cães errantes, estes por sua vez possuem imunidade baixa devido estarem expostos a várias situações desfavoráveis, como exemplo não se alimentarem corretamente (Vilaça, 2016). No Brasil, o TVT é responsável por 20% das neoplasias que acometem os cães, estando classificada como a segunda maior incidência em cães, perdendo apenas para a neoplasia mamária (Fonseca, 2017).

O TVT possui um número muito significativo no Brasil, no entanto não há dados estatísticos oficiais que confirmem sua incidência, não há uma estatística da quantidade de cães que vivem nas ruas e com isso estes animais estão expostos naturalmente à neoplasia devido ao grande número de cruzamentos que podem infectar. Esta neoplasia é observada com maior frequência em cães sexualmente ativos, o clima favorece essa neoplasia, normalmente frequente em áreas tropicais ou subtropicais (Amaral et al. 2004).

Conforme alguns estudos, é possível que o TVT tem se desenvolvido a partir de uma origem comum, e transmissão continuada como aloenxertos, pelo fato dessa neoplasia estar presente em várias regiões (Gaspar, 2005). A transmissão do tumor venéreo transmissível ocorre pela implantação mecânica das células tumorais, que geralmente ocorre na hora do acasalamento, por lambedura da área afetada, e também pelo ato de um animal saudável cheirar outro animal que esteja contaminado, podendo ocasionar lesões em nariz, boca, cavidade oral e até mesmo na pele.

Uma ocorrência rara, é a implantação de células neoplásicas e o seu desenvolvimento em sítios primários extravaginais, já que os cães possuem o hábito de lambar ou farejar, podendo ser acometidos na cavidade nasal, oral, ânus, tecido subcutâneo e globo ocular (Pereira et al. 2017). O tumor venéreo transmissível, pode se apresentar de diversas formas, como uma massa única ou lesões múltiplas, podendo apresentar variedades morfológicas, como formato de couve-flor, formas pendulares, nodulares, papilares ou multilobulares (Batista et al. 2007). Após a implantação, as células tumorais iniciam sua multiplicação após duas ou três semanas (Greatti et al. 2004).

Em relação ao sexo, a raça ou idade, acomete sem exceções, pois não há padrão específico (Daleck et al. 2009). Porém estudos mostram que as cadelas possuem uma maior probabilidade (Brandão et al. 2002) no entanto há estudos que apontam os machos com maior probabilidade de serem acometidos pelo TVT (Amaral et al. 2004).

Alguns estudos mostram que não há comprovação em relação à transmissão hereditária. Porém, segundo estudos de Brooks e colaboradores (2003) relataram que pode ocorrer a herança do elemento LINE-1 que fica próxima ao gene C-MYC e com isso representa uma maior predisposição ao desenvolvimento do TVT ocorrendo após a exposição ao agente causador dessa neoplasia.

Como o TVT apresenta um comportamento de infectividade, é sugestivo que ele seja causado por vírus, mas a inoculação de filtrados completamente livres da presença de células não induziu ao crescimento tumoral, mas essa metodologia

sofreu questionamento por alguns autores. Também nenhuma evidência reproduzindo a oncogênese viral pode ser demonstrada. O cariótipo normal do cão é de 78 cromossomos, sendo que 76 são do tipo acrocêntricos. TVT presente em vários locais do mundo possuem número de cromossomos em torno de 59, 16 metacêntricos e 43 acrocêntricos. Porém em relação ao número de braços cromossômicos e a quantidade de DNA das células dessa neoplasia são iguais aos das células caninas normais.

Gaspar (2005) relata que essa tumoração pode ser induzida em cães adultos saudáveis e imunocompetentes realizando-se a inoculação subcutânea de células tumorais viáveis. As metástases não são comuns, ocorre entre 5 a 17% dos casos, geralmente em cães imunossuprimidos, persistindo por mais de seis meses, com improvável a remissão espontânea das lesões. Estudos constataram inúmeros sítios metastáticos, com destaque para o acometimento da pele, mucosa oral e nasal, linfonodos, ossos, baço, sistema nervoso central, tecido mamário, pleura, mesentério, fígado e rins (Horta et al. 2014).

As metástases são raras em locais extracutâneos sendo relatadas em apenas 1% dos casos. Existem estudos relatando o envolvimento do globo ocular, ocorrendo por casos de metástases ou por meio de implantação (Costa, 2017). A ocorrência da metástase é considerada o selo definitivo de malignidade. Três vias clássicas podem estar relacionadas à ocorrência de metástases, entre elas, a invasão direta de vasos sanguíneos, a invasão de vasos linfáticos e a semeadura. A disseminação extragenital é muito rara, e está relacionada ao comportamento metastático dessa neoplasia que ainda não ta completamente esclarecida. Acredita-se que a deficiência na resposta imune do hospedeiro pode favorecer a disseminação da doença, principalmente em pacientes que permanecem com lesões por períodos prolongados (Horta et al. 2014).

Nos cães portadores de TVT, deve ser considerada a autoinfecção por lambedura do tumor genital, particularmente quando houver envolvimento nasal, oral ou conjuntival (GASPAR, 2005). Nos casos de transplante experimental de tumores, três fases podem ser observadas, como crescimento ou progressão, estabilidade e regressão (Chu et al. 2001). O tumor experimentalmente induzido tem uma evolução diferenciada daqueles de origem natural (O'Neill, 2011). Conforme relatos de alguns autores o TVT de ocorrência natural evolui à regressão quando estabelecido em cães imunologicamente competentes (Liao et al. 2003; Park et al. 2006).

Daleck e colaboradores (2009), relatam que a pele é o principal sítio de metástase, ocorrendo também casos que envolvem a musosa anal e perineal, o tecido subcutâneo, fígado, baço, rins, tecido muscular, língua e linfonodos (Castelo-Branco et al. 2008). Pode ocorrer a extensão do tumor nasal para os seios maxilares e faringe, da vagina para a cérvix e corpo do útero e também se instalando no globo ocular. É notada diferença na ocorrência de metástase em ambos os sexos dos cães, já que ocorrem particularidades na drenagem linfática da genitália externa desses animais. Nas fêmeas, a drenagem é realizada pelos linfonodos ilíacos internos, o que facilitaria o desenvolvimento de metástases viscerais, já nos machos, o fluxo é direcionado aos linfonodos inguinais superficiais e lombares (Lima, 2013). Pode ser observado na regressão dos tumores a presença de edema, infiltração de linfócitos e plasmócitos e hemorragia, e em casos de estágio final da regressão pode ocorrer necrose, apoptose e fibrose (Santos et al. 2008).

O TVT está relacionado ao mecanismo do sistema imune. Para obtenção de uma terapia eficaz contra o tumor é fundamental conhecer as características dos antígenos tumorais, além de compreender como funciona a resposta imune nos diferentes estágios de desenvolvimento tumoral (Lima et al. 2012). O sistema imune do animal pode impedir o desenvolvimento neoplásico sendo mediado prioritariamente pela atividade linfocitária T e IFN- γ (Swann; Smith 2007).

Os sinais clínicos mais observados nessa tumoração são a secreção hemorrágica, a lambedura frequente na massa, e protusão pela genitália de tumores friáveis e avermelhados. O TVT apresenta graus de malignidade, onde podem ser observadas massas tumorais secundárias que podem estar em vários locais como cavidade bucal, adenohipófise, cérebro, nervos periféricos, bolsa escrotal, baço, globo ocular, seios nasais. Geralmente os tumores inicialmente apresentam formas de pequenas áreas hiperêmicas e elevadas de aproximadamente cinco cm de diâmetro, e caso não haja tratamento e a neoplasia

progredir, esse diâmetro pode ser muito maior. Podem ser observadas alterações nos cães que apresentam TVT, como prurido, modificações comportamentais, podendo ficar agressivos, apáticos ou letárgicos (Batista et al. 2007).

A literatura cita que a citologia realizada para o diagnóstico de tumores de células redondas evidencia que as características citológicas são bem mais precisas para o diagnóstico que as histológicas. O TVT apresenta características citológicas distintas dos outros tumores de células redondas, facilitando então o diagnóstico (Simermann, 2009). Em relação ao prognóstico, pode-se dizer que é favorável, o tratamento pela quimioterapia normalmente é eficiente, mas há relatos de recidivas (Silva et al., 2015). Para classificação de uma lesão como neoplasia maligna, é necessário que ocorra alterações no núcleo e citoplasma, portanto deve haver de três a cinco alterações citoplasmáticas para que se enquadre na categoria. Algumas alterações como a presença de nucléolos angulares, moldagem nuclear e mitoses bizarras, são fortemente indicativas de malignidade (Roselem et al. 2013).

Normalmente na rotina clínica o diagnóstico é realizado mais comumente pelo exame físico, onde pode ser observado o tumor na genitália externa dos cães. Quando não se observa tumores genitais e ocorre suspeita de outras regiões do corpo, o “imprint” e a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) podem ser necessários, tendo-se a opção também de diagnóstico por meio de exame histopatológico (Silva, 2007).

A citologia por agulha fina (CAAF) iniciou a ser utilizada em animais por volta da década de 1980, auxiliando então na diferenciação de hiperplasias, neoplasias, inflamações e degenerações. Alguns estudos comparativos entre a CAAF e a biópsia incisional indicaram várias vantagens em relação a primeira, como baixo custo, eficácia de resultados, rapidez, facilidade de coleta, além de não oferecer riscos ao paciente, podendo tranquilamente ser efetuada em ambulatório. Certamente também possui algumas desvantagens como a impossibilidade de graduar os neoplasmas e a dificuldade em elaborar um prognóstico sem a avaliação da morfologia tecidual (Teixeira et al. 2010).

A coleta de material por punção aspirativa pode ser realizada utilizando-se agulhas de calibre 24G ou 26G para lesões com até 1 cm de diâmetro ou agulhas 22G para lesões maiores e seringa descartável de 10 mL e citoaspirador de Valeri. Já em caso de animais com massas internas, geralmente intra-abdominais, deve-se realizar o procedimento guiado por ultrassom para maior segurança do paciente e com agulhas longas suficientes para que possam chegar até o tumor. Para realização do procedimento a agulha deve estar acoplada a seringa e faz-se uma pressão negativa sem retirar a agulha de dentro da massa tumoral. Após a agulha e retirada da seringa, a qual será preenchida com ar e reconectada a agulha. O conteúdo da agulha é então empurrado pelo ar da seringa para lâminas de vidro com extremidade fosca, e com a lâmina extensora deve –se fazer a distensão por compressão suave (Amaral, 2014).

O método de impressões teciduais, também conhecido por “imprint”, é o procedimento no qual se coloca a superfície de uma lâmina de vidro lisa em contato com a área lesionada exercendo uma leve pressão, semelhante ao procedimento para se obter uma impressão digital. Com esse método as células superficiais da lesão serão transferidas para a superfície da lâmina de vidro podendo então serem observadas ao microscópio após coloração, sendo denominado também de citologia de decalque (Guimarães et al. 2010).

O “imprint” então, baseia-se na obtenção das células superficiais das lesões ou superfície de corte dos órgãos sendo passados para lâmina de vidro para poderem ser analisado. É indicada para a colheita de material de lesões ulceradas ou durante cirurgias e necropsias para confirmação diagnóstica de suspeitas levantadas no exame macroscópico. Conforme relatos de estudos mostram que a técnica de “imprint” apresenta menor quantidade celular que os raspados, além de maior contaminação, tanto bacteriana quanto celular, em comparação às técnicas de punção por agulha fina (Silva, Faleiro & Moura, 2015).

O método de “imprint” pode ser também utilizado em amostras de biópsias cirúrgicas, logo após a realização da cirurgia, antes que essas peças sejam fixadas pelo formol a 10%. Deve ser utilizada apenas em neoplasias cuja formação

tecidual seja bastante celular, não sendo indicada para peças fibrosas. O diagnóstico fica muito prejudicado caso seja uma neoplasia ulcerada, já que terá um processo inflamatório em curso, sendo assim não é indicada nesses casos.

Devido ao TVT apresentar alta celularidade e apresentar baixa coesão, as amostras citopatológicas do TVT são facilmente obtidas. Porém isso depende da preparação da amostra, é necessário seguir os parâmetros corretos de uma boa fixação celular, para assim evitar um falso diagnóstico (Simermann, 2009).

O diagnóstico diferencial é através de Linfomas Cutâneos e Carcinoma Espinocelular (Santos & Shimizu, 2004). O tratamento geralmente se baseia na quimioterapia, conforme alguns estudos ela é um tratamento eficiente, sendo ainda o método de tratamento mais indicado. O tratamento dura de quatro a seis semanas. É indicado a quimioterapia citotóxica, em que cerca de 90% dos cães respondem a terapia com o sulfato de vincristina, com uma porcentagem pequena que são resistentes ao tratamento. A vincristina, no entanto, apresenta efeitos colaterais indesejáveis, sendo neurotóxica e citostática não seletiva, levando a uma depressão de sistema celular de renovação rápida (Ferreira et al. 2017).

A quimioterapia pode ser o tratamento de eleição tanto no caso de tumores solitários como múltiplos ou metastáticos, podendo-se utilizar uma medicação ou associação desses agentes quimioterápicos como a vincristina a 0,025mg/Kg (máximo de 1mg), ciclofosfamida e metotrexato tem mostrado grande eficácia (Santos et al. 2008). E também quando ocorre resistência à vincristina, é indicado a associação além do metotrexato, a associação com a doxorrubicina, e a ciclofosfamida, porém pode ocorrer um maior grau de sintomas colaterais (Simermann, 2009).

Segundo Florentino et al. (2006), em 90% dos casos o prognóstico é bom, porém se seguir com o tratamento correto, o número de dose e o tempo entre cada aplicação do sulfato de vincristina. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o diagnóstico de TVT por meio de “imprint”, com o intuito de verificar sua eficácia no diagnóstico dessa doença.

2. Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado no município de Rolim de Moura – RO, em duas clínicas veterinárias, para o desenvolvimento da pesquisa foram estudados 11 cães, estes referentes à primeira clínica, com sinais clínicos de tumor venéreo transmissível (TVT), animais SRD, de diferentes faixas etárias e sexo. Na segunda clínica, foi possível somente obter uma estatística de número de casos nesse presente ano, e qual foi o método utilizado; esta apresentou uma estatística média de 10 casos, com um caso extracutâneo. Ambas as clínicas utilizam o método de “imprint” para diagnóstico de TVT. A leitura das lâminas foi realizada no laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Rondônia.

Para a coleta de amostras para citologia, as lâminas foram confeccionadas pela técnica de “imprint”, foi utilizada a coloração de Romanowski (panótico) para posterior avaliação em microscopia óptica. (HORTA et al., 2014). Foram utilizadas lâminas de vidro, está por sua vez utilizada em lesões proliferadas, a lâmina de vidro lisa foi colocada em contato com a lesão onde foi exercida uma leve pressão na mesma para poder captar as células superficiais da lesão que passaram para a superfície da lâmina de vidro. As lâminas foram secas em temperatura ambiente e posteriormente coradas com o auxílio do corante panótico rápido, no qual a lâmina foi fixada por 30 segundos na solução de triarilmetano, após mais 30 segundos na solução de xantenos, e finalmente por 30 segundos na solução de tiazinhas.

Para a leitura das lâminas foi utilizado microscópio óptico para observação citológica. Para tal, foi realizada observação em aumento de 100X para avaliação de morfologia das celular e para análise morfométrica foi utilizado o aumento de 400X (Amaral, 2004).

3. Resultados e Discussão

Foi realizado em uma universidade pública de Rondônia exames citológicos por meio do método de “imprint” para diagnosticar o Tumor Venéreo Transmissível nas espécies canina, tanto de macho quanto de fêmea, em um total de 11 animais,

dentre estes, 9 fêmeas e 2 machos. A colheita foi realizada em uma Clínica Veterinária do município de Rolim de Moura e posteriormente enviada para a universidade. Todos os animais aos quais foram realizados os estudos citológicos por meio do método de “imprint” foram observadas células características da neoplasia em questão, sendo então considerados positivo para o TVT.

No exame citológico, por meio do método de “imprint” apresentou grande quantidade de células arredondadas individualizadas, com núcleo redondo e nucléolo proeminente. Presença de numerosos pequenos vacúolos na periferia. Algumas células apresentavam - se binucleadas (Figura 7E), quando realizado a coleta, a fixação das células na lâmina e a leitura corretamente, essas características de TVT se tornam fáceis de serem visualizadas pelo método de “imprint”.

A localização mais frequente da neoplasia foi a genitália, tendo sido observado infiltrado inflamatório predominante nos casos genitais, provavelmente associado às ulcerações de superfície e invasão bacteriana. Segundo Silva, Faleiro & Moura (2005). O método de “imprint” apesar de ser uma técnica de fácil realização, apresenta menor quantidade celular que os raspados, além de maior contaminação, tanto bacterianos quanto celular, em comparação às técnicas de punção por agulha fina.

Já Simermann (2009) relata que as amostras citológicas do TVT são obtidas facilmente porque a neoplasia apresenta alto grau de celularidade e muita baixa coesão entre as células tumorais. Cita também que a qualidade do resultado do exame citológico está diretamente relacionado com a qualidade da amostra obtida e fundamentalmente a preparação das lâminas. Não menos importante é a coloração adequada das lâminas e a interpretação pelo observador, que será decisivo para o diagnóstico fidedigno. Contudo o diagnóstico por meio de “imprint” para TVT mostrou-se efetivo e visto que as células de TVT possuem particularidades, que são detectáveis nesse método de diagnóstico.

4. Conclusão

O estudo realizado possibilitou concluir que, o método de “imprint” é eficaz para o diagnóstico de TVT, apesar do diagnóstico por “imprint” para confirmação de TVT seja pouco relatado, alguns estudos mostraram a sua importância como método citológico, que facilita na sua confirmação e posteriormente no tratamento

Referências

- Amaral, A. S. et al. (2004). Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99(551): 167-171.
- Brandão, C. V. et al. (2002). Tumor venéreo transmissível: estudo retrospectivo de 127 casos (1998-2000). *Revista Educação Continuada - CRMV-SP*, 5(1): 25-31.
- Brooks, M. B. et al. (2003). A LINE-1 insertion in the factor IX gene segregates with mild hemophilia B in dogs. *Mammalian Genome: official journal of the International Mammalian Genome Society*, 14, 788-795.
- Castelo-Branco, P. S. M. et al. (2008). Uso da ^{99m}Tc-Timina na identificação de metástases de tumor venéreo transmissível canino com apresentação cutânea. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(8): 367-379.
- Chu, R. M. et al. (2001a). Proliferation characteristics of canine transmissible venereal tumor. *Anticancer Research*, 21(6A): 4017-4024.
- Costa, D. F. L. et al. (2017). Tumor venéreo transmissível canino em mucosa vaginal com metástase em pele e globo ocular. *Ciência Animal*, 27(2): 121-125.
- Dabus, D. M. M. et al. (2008). Estudo Epidemiológico do Tumor Venéreo Transmissível Baseado nos Padrões Plasmocitóide e Linfocitóide em Cães Atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. 6(11).
- Dalek, C.R., Nardi, A.B. & Rodaski, S. (2009). *Oncologia em cães e gatos*. São Paulo: Roca.
- Ferreira, M. A. Q. B. (2017). Aspectos clínicos, hematológicos, bioquímicos e citopatológicos do tumor venéreo transmissível em cães tratados com sulfato de vincristina. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. 11(1): 8-17.
- Florentino, K. C. et al. (2006). Tumor venéreo transmissível cutâneo canino - Relato de caso. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*. 3(7).
- Fonseca, F. M. C. et al. (2017). Incidência de tumor venéreo transmissível em caninos. *Revista científica de medicina veterinária*. 14(28).

- Gaspar, L. F. J. (2005). *Caracterização citomorfológica do tumor venéreo transmissível canino correlacionada com danos citogenéticos, taxa de proliferação e resposta clínica à quimioterapia*. 157f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Greatti, W. F. P. et al. (2004). Índices proliferativos do tumor venéreo canino transmissível pelas técnicas do cec e ki-67 na citologia aspirativa com agulha fina (Proliferation indexes determination by CEC and Ki-67 in fine needle aspiration cytology of transmissible venereal tumor). *Archives of Veterinary Science*, 9(1): 53-59.
- Guimarães, A. C. R. et al. (2010). *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 2*. EPSJV; IOC.
- Horta, R. S. et al. (2014). Tumor venéreo transmissível (TVT) com metástase para a glândula mamária. *Acta Scientiae Veterinariae*, 42: 1-6.
- Liao, K. W. (2003). Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specific lytoxic for B cell. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 92: 149-162.
- Lima, C. R. O. (2013). *Classificação morfológica, critérios de malignidade, expressão gênica de c-myc e imunoistoquímica de c-myc, p53, p21 e p27 no tumor venéreo transmissível canino*. 125 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Lima, C. R. O. et al. (2012). Resposta imune e o papel dos linfócitos T e B no microambiente tumoral: revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 9(18): 1-27.
- O'Neill, I. D. (2011). Concise review: transmissible animal tumors as models of the cancer stem-cell process. *Cancer Stem Cells*, 29(12): 1909-1914.
- Park, M. S. et al. (2006). Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(1): 130-133.
- Pereira, L. H. B. et al. (2017). Tumor venéreo transmissível nasal em cão: Relato de caso. *PUBVET*, 11(4): 351-355.
- Rebbeck, C. A. et al. (2009). Origins and evolution of a transmissible cancer. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 63: 2340-2349.
- Roselem, M. C. et al. (2013). Estudo retrospectivo de exames citológicos realizados em um Hospital Veterinário Escola em um período de cinco anos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(3):735-741.
- Santos, D. E. et al. (2008). Tumor Venéreo Transmissível (TVT): Revisão de Literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 6(10).
- Santos, F. G. A. et al. (2005). O Tumor Venéreo Transmissível Canino – Aspectos Gerais e Abordagens Moleculares (Revisão de Literatura). *Biosci. J.*, 21(3): 41-53.
- Santos, M. S. P. (2011). Tumor venéreo transmissível (tvt) - revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 9(16).
- Santos, P. C. G. & Shimizu, F. A. (2004). Aspectos anatomohistopatológico do tumor venéreo transmissível. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Edição número 3.
- Silva, D. R., Faleiro, M. B. R. & Moura, V. M. B. D. (2015). Tumores de células redondas em cães: aspectos gerais e marcadores imunoistoquímicos. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer – Goiânia, 11(22).
- Silva, M. C. V. (2007). Avaliação Epidemiológica, Diagnóstica e Terapêutica Tumor Venéreo Transmissível (TVT) na População Canina Atendida no Hospital Veterinário da UFERSA. *Acta Veterinaria Brasileira*, 1(1): 28-32.
- Simermann, N. F. S. (2009). *Sulfato de Vincristina no Tratamento do Tumor Venéreo Transmissível Frente à Caracterização Citomorfológica*. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Stockmann, D. et al. (2011). Canine transmissible venereal tumors: aspects related to program med cell death. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 4(1): 65-75.
- Swann, J. B. & Smyth, M. J. (2007). Immune surveil lance of tumors. *Journal of Clinical Investigation*, 117(5): 1137-1146.
- Vilaça, M. R. (2016). *Ocorrência de Tumor Venéreo Transmissível (TVT) em Cães Atendidos na Clínica de Medicina Veterinária (CLIMVET) do UNIFOR – MG, entre os anos de 2011 a 2015*. 32f. Dissertação para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade de Formiga, Minas Gerais.